PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6: (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/26910 A2 A61K 39/00, 39/385 (43) Internationales 31. Juli 1997 (31.07.97) Veröffentlichungsdatum: PCT/DE97/00172 (81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, (21) Internationales Aktenzeichen: CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, (22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97) (30) Prioritätsdaten: Veröffentlicht 196 02 985.6 DE Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu 27. Januar 1996 (27.01.96) 196 04 380.8 7. Februar 1996 (07.02.96) DE veröffentlichen nach Erhalt des Berichts. (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A. D-13467 Berlin (DE). (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz: BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rossle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

- (54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS
- (54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

(57) Abstract

The invention concerns a tumour vaccine in which the immunogenicity of tumour cells, tumour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, Escherichia coli or from Chlamydia trachomatis.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, Escherichia coli oder aus Chlamydia trachomatis erhalten werden.

. .

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| AM | Armenien | GB | Vereinigtes Königreich | MX | Mexiko |
|----|--------------------------------|-----|-----------------------------------|-----|--------------------------------|
| AT | Österreich | GE | Georgien | NE | Niger |
| ΑÜ | Australien | GN | Guinea | NL | Niederlande |
| BB | Barbados | GR | Griechenland | NO | Norwegen |
| BE | Belgien | HU | Ungam | NZ | Neusceland |
| BF | Burkina Faso | ΙE | Irland | Pl. | Polen |
| BG | Bulgarien | IT | Italien | PT | Portugal |
| BJ | Benin | JР | Japan | RO | Rumanien |
| BR | Brasilien | KE | Kenya | RU | Russische Föderation |
| BY | Belarus | KG | Kirgisistan | SD | Sudan |
| CA | Kanada | KР | Demokratische Volksrepublik Kores | SE | Schweden |
| CF | Zentrale Afrikanische Republik | KR | Republik Korea | SG | Singapur |
| CC | Kongo | KZ. | Kasachstan | SI | Slowenien |
| CH | Schweiz | LI | Liechtenstein | SK | Slowakei |
| Cl | Côte d'Ivoire | LK | Sri Lanka | SN | Senegal |
| СМ | Kamerun | LR | Liberia | SZ | · Swasiland |
| CH | China | LK | Litauen | TD | Tschad |
| cs | Tschechoslowakei | LU | Luxemburg | TG | Togo |
| CZ | Tschechische Republik | LV | Leniand | TJ | Tadschikistan |
| DE | Deutschland | MC | Monaco | TT | Trinidad und Tobago |
| DK | Dänemark | MD | Republik Moldau | ÜA | Ukraine |
| EE | Estland | MG | Madagaskar | υG | Uganda |
| ES | Spanien | ML | Mali | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| Fl | Finnland | MN | Mongolei | UZ | Usbekistan |
| FR | Frankreich | MR | Mauretanien | VN | Vietnam |
| GA | Gabon | MW | Majawi | | |

der Lage, eine wirksame Abwehrreaktion gegen die nativen Tumorzellen zustandezubringen.

Um eine wirksame immunologische Abwehrreaktion gegen ma-5 ligne Tumoren hervorzurufen, ist es unerläßlich, die Immunogenität derjenigen Tumorzellen oder tumorassoziierten Antigene mit denen man eine Impfung vornehmen will, künstlich zu verstärken. Bei Tumorzellimpfstoffen kann dieses dadurch geschehen, daß man die Tumorzellen che-10 misch, enzymatisch oder durch Hinzufügen apathogener Viren bzw. abgeschwächter Tuberkelbakterien (BCG) äußerlich modifiziert oder gentechnisch durch Übertragung z.B. eines Zytokingens verändert (Specific Immunotherapy of Cancer with Vaccines, eds. Bystryn et al., Ann NY Acad Sci 690 (1993); Pardoll, Curr Opin Immunol 4, 619-623 (1992)). Subzellulāre, lösliche tumorassoziierte Antigene, z.B. Proteine oder Peptide mit entsprechenden immundominanten Epitopen aus Melanomzellen (van der Bruggen et al., Science 254, 1643-1647 (1991), Adenokarzinomen (Taylor-Papadimitriou et al., Ann NY Acad Sci 690, 69-79 20 (1993)) oder anderen Tumoren (Slingluff et al., Curr Opin Immunol 6, 733-740 (1994)) müssen an ein immunogenes Trägermolekül gebunden werden, um ihre schwache Immunogenität zu verstärken bzw. sie überhaupt immunogen zu machen. Peptide ohne Trägermolekül wirken in der Regel lediglich als Hapten, d.h. sie reagieren zwar mit einem entsprechenden peptidspezifischen Antikörper, können aber selbst keine Immunantwort hervorrufen. Als Trägermolekül werden bestimmte Serumproteine oder bakterielle Toxoide verwendet. Vor der Impfung wird dem Konjugat aus Peptid und Trägermolekül üblicherweise ein Adjuvans zugefügt, wodurch die Immunantwort nochmals verstärkt wird.

Prinzipiell wird die Immunantwort erkennbar an Hand der Bildung antigenspezifischer Antikörper und/oder T-Lymphozyten. Wie Ergebnisse von tierexperimentellen Untersuchungen und in-vitro-Tests mit humanen Tumorzellen zeigen, kommt es bei der Erzeugung einer therapeutisch

PCT/DE97/00172 WO 97/26910

Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von malignen Tumoren

Beschreibung

30

35

Die Erfindung betrifft die Herstellung eines Impfstoffes aus gentechnisch modifizierten Tumorzellen beziehungsweise aus biochemisch isolierten tumorassoziierten Antigenen oder synthetisch hergestellten antigenen Teilstrukturen für die Immuntherapie von malignen Tumoren. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Die grundlegende Therapie solider maligner Tumoren ist die chirurgische oder strahlentherapeutische Entfernung des Primärtumors. Bei systemischen Formen der Krebserkrankung oder chirurgisch nicht erreichbaren Tumormetastasen führt man eine Chemotherapie durch oder versucht eine biologische Therapie. Theoretisch gesehen ist die Erzeugung einer gegen Krebszellen gerichteten Immunantwort, die zur Zerstörung der Krebszellen führt, das ge-20 sunde Gewebe aber nicht behelligt, die optimale Methode, um Tumormetastasen zu bekämpfen. Daß es prinzipiell möglich ist, eine gegen Krebszellen gerichtete Immunantwort zu erzeugen, wird durch Ergebnisse von Impfversuchen mit tierexperimentellen Tumoren sowie auch mit einigen Tumo-25 ren des Menschen belegt.

Es sind jedoch noch Hemmnisse zu überwinden, ehe diese Form der aktiven spezifischen Immunisierung zur Therapie von Krebserkrankungen eine breitere klinische Anwendung finden kann. Eines der größten Hemmnisse ist die geringe Immunogenität spontan entstandener Tumoren. Unstrittig ist, daß die meisten Tumoren, auch diejenigen des Menschen, tumorassoziierte Antigene besitzen, durch die sie sich vom gesunden Gewebe unterscheiden. Da Tumoren jedoch körpereigenes Gewebe darstellen, registriert das Immunsystem lediglich die Existenz tumorassoziierter Antigene auf den malignen Zellen, ist aber von sich aus nicht in

WO 97/26910 3

wirksamen Immunantwort gegen Krebszellen in erster Linie auf eine durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität an und weniger auf die Bildung von Antikörpern (Hellström and Hellström, Ann NY Acad Sci 690, 24-33 (1993)). Allerdings Hellström, Ann NY Acad Sci 690, 24-33 (1993)). Allerdings existieren bisher keine klaren Vorstellungen darüber, wie existieren bisher keine klaren Vorstellungen darüber, wie man bei einer Impfung von Tumorpatienten mit tumorassoziman bei einer Impfung von Tumorpatienten mit tumorassozimerten Antigenen oder kurzkettigen Peptiden verfahren ierten Antigenen oder kurzkettigen Peptiden verfahren muß, um vor allem die Bildung tumorantigenspezifischer Tumuß, um vor allem die Bildung tumorantigenspezifischer T

Das Ziel der vorliegenden Erfindung war es deshalb, einen Tumorimpfstoff bereitzustellen, der es gestattet, sowohl Tumorzellen als auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen für eine wirksame Abwehrreaktion gegen native Tumorzellen einzusetzen. Die Aufgabe der Ergen native Tumorzellen einzusetzen. Die Aufgabe der Erfindung bestand dabei darin, die Immunogenität von als Impfstoff verwendeten Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische tigenen oder antigenen Teilstrukturen beziehungsweise durch biochemische Modifizierung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam zu verstärken und dabei insbesondere die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

25

30

Überraschend konnte diese Aufgabe durch gentechnische Modifizierung von Tumorzellen, die erfindungsgemäß zusätzlich das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten oder durch Bindung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gelöst werden.

Der erfindungsgemäße Tumorimpfstoff enthält Tumorzellen, die das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten beziehungsweise tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen, die an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.

Bevorzugt wird ein mikrobielles Hitzeschockprotein beziehungsweise sein Gen verwendet. Besonders bevorzugt sind das Gen von Hitzeschockproteinen beziehungsweise Hitzeschockproteine aus Mycobakterien, Escherichia coli und aus Chlamydia trachomatis, insbesondere sind es die Hitzeschockproteine HSP65 und HSP70 aus Mycobakterien, HSP70 aus Escherichia coli (DnaK) sowie HSP60 und HSP70 aus Chlamydia trachomatis.

- Zur Herstellung des Tumorimpfstoffes eignen sich autologe 10 Tumorzellen, die mit Hilfe mechanischer oder enzymatischer Methoden aus chirurgisch entferntem Tumorgewebe isoliert werden. Tumorzellinien, die von allogenen Tumoren gleicher Histologie stammen, können ebenfalls verwen-
- det werden, ein Beispiel dafür sind Zellen einer Colonkarzinomlinie, wie z.B. die Linien LS174T oder LOVO. Der Impfstoff wird postoperativ verabfolgt, vor der Applikation werden die Tumorzellen durch radioaktive Bestrahlung devitalisiert.
- Infolge der Bereitstellung dieses erfindungsgemäßen Tumo-20 rimpfstoffes durch Einschleusen des Gens eines exogenen Hitzeschockproteins und dessen Expression werden die Tumorzellen nachhaltig verfremdet und damit stärker immunogen. Das Gen des Hitzeschockproteins wird z.B. in den
- Vektor pcDNA3 (Invitrogen Corp.) insertiert. Die Ein-25 schleusung und Expression des Gens eines Hitzeschockproteins erfolgt nach an sich bekannten Methoden, wie z.B. durch Transfektion mit dem liposomalen Reagenz DOTAP (Boehringer Mannheim GmbH) nach Felgner et al. Proc Natl
- Acad Sci USA 84 (1987), 7413-7417, Li et al. Biochemica, 30

Danach können Tumorimpfstoffe für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder malignem Lymphom hergestellt werden.

35

Gemäß der Erfindung werden auch biochemisch isolierte tumorassoziierte Antigene und synthetisch hergestellte antigene Teilstrukturen verwendet. Ein tumorassoziiertes Antigen ist beispielsweise das Carcinoembryonale Antigen. Als synthetisch hergestellte antigene Teilstrukturen werden gemäß der Erfindung synthetisch hergestellte Mucinpeptide, insbesondere Monomere und Oligomere der Mucinpeptide MUC1 und MUC2 eingesetzt.

Der Tumorimpfstoff wird nach an sich üblichen Methoden unter sterilen Kautelen hergestellt, in dem das Hitze-10 schockprotein chemisch an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

Mit dem erfindungsgemäßen Tumorimpfstoff wird eine neuartige Strategie verfolgt. Durch die gentechnische Modifizierung von Tumorzellen mit dem Gen eines Hitzeschockproteins beziehungseise durch die Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein wird überraschend die Immunogenität von Tumorzellen und von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam verstärkt, d.h. es wird dadurch erstmalig möglich, auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen gezielt einzusetzen und dadurch die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

Die erfindungsgemäßen Tumorimpfstoffe werden für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom oder malignem Melanom verwendet und vorzugsweise postoperativ verabfolgt.

Patentansprüche

1. Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von Tumoren enthaltend Tumorzellen, tumorassoziierte Antigene oder
antigene Teilstrukturen, wobei die Tumorzellen das
Gen eines exogenen Hitzschockproteins enthalten, und
die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.

10

5

 Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Tumorzellen devitalisierte autologe oder allogene Tumorzellen eingesetzt werden.

15

20

- 3. Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen biochemisch isoliert oder synthetisch hergestellt werden.
- Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß als tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen synthetisch hergestellte Mucinpeptide verwendet werden.
 - 5. Tumorimpfstoff nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß synthetisch hergestellte Monomere oder Oligomere der Mucinpeptide MUC1 und MUC2 verwendet werden.
 - Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß
- als tumorassoziiertes Antigen oder antigene Teilstrukturen Carcinoembryonales Antigen oder antigene Teilstrukturen des Carcinoembryonalen Antigens verwendet werden.

5

- 7. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das exogene Hitzeschockprotein ein mikrobielles Hitzeschockprotein ist.
- 8. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 das Hitzeschockprotein das Protein HSP65 aus Mycobakterien ist.
- Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Mycobakterien ist.
- 10. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Escherichia coli (DnaK) ist.
- 11. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 das Hitzeschockprotein das Protein HSP60 aus Chlamydia trachomatis ist.
- 12. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7,
 dadurch gekennzeichnet, daß
 das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Chlamydia trachomatis ist.
 - 13. Verwendung eines Tumorimpfstoffes nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder malignem Lymphom.

- 14. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffes nach einem der Ansprüche 1,2 und 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß man in Tumorzellen die cDNA des Gens eines Hitzeschockproteins einschleust und dort zur Expression bringt:
- 15. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffs für die Immuntherapie nach den Ansprüchen 1 und 3 bis 12,
 10 dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzschockprotein an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

PCT

WELTORGANISATION FUR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6:

A61K 39/00, 39/385

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 97/26910

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

31. Juli 1997 (31.07.97)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/DE97/00172

A3

DE

DE

(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97)

(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH. DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL.

PT, SE).

(30) Prioritätsdaten:

196 02 985.6 196 04 380.8

27. Januar 1996 (27.01.96)

7. Februar 1996 (07.02.96)

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE).

(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentsteile, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 2. Oktober 1997 (02.10.97)

(54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS

(54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

(57) Abstract

The invention concerns a tumour vaccine in which the immunogenicity of tumour cells, tumour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, Escherichia coli or from Chlamydia trachomatis.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, Escherichia coli oder aus Chlamydia trachomatis erhalten werden.

A

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| AM | Armenien | GB | Vereinigtes Königreich | MX | A.C. 11 |
|------|--------------------------------|----|-----------------------------------|------------|--------------------------------|
| AT | Osterreich | GE | Georgien | | Mexiko |
| AU | Australien | GN | Guinea | NE - NL | Niger |
| B8 | Barbados | GR | Griechenland | | Niederlande |
| BE | Belgien | หบ | Ungam | NO | Norwegen |
| BF | Burkina Faso | IK | Irland | NZ | Neuseeland |
| 8G | Bulgarien | iT | Italien | PL | Polen |
| Bj | Benin | JР | Japan | PT | Portugal |
| BR | Brasilien | KE | Kenya | RO | Rumanien |
| BY | Belanus | KG | Kirgisistan | RU | Russische Föderation |
| CA | Kanada | KP | | SD | Sudan |
| CF | Zentrale Afrikanische Republik | KR | Demokratische Volksrepublik Korea | SE | Schweden - |
| CG | Kongo | KZ | Republik Korea | SG | Singapur |
| CH | Schweiz | LI | Kasachstan | ız | Slowenien |
| CI | Côte d'Ivoire | LK | Liechtenstein | SK | Słowakci |
| CM | Kamerun | | Sri Lanka | SN | Senegai |
| - CN | China | LR | Liberia | SZ | Swasiland |
| CS | Tschechoslowakei | LK | Litauen | TD | Tschad |
| cz | Tschechische Republik | LU | Luxemburg | TG | Togo |
| DE | Deutschland . | LV | Lettland | TJ | Tadschikistan |
| DK | Danemark | MC | Monaco | TT | Trinidad und Tobago |
| EE | Estland | MD | Republik Moldau | UA. | Ukraine |
| ES | Spanien | MG | Madagaskar | UG | Uganda |
| FI | Finnland | ML | Mali | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| FR | Frankreich | MN | Mongolei | UZ. | Usbekistan |
| GA | Gabon | MR | Mauretanien | VN | Vietnam |
| UA | Caucin | MW | Malawi | | |
| | | | | | |

Intern: al Application No PCT/DE 97/00172

| | | | , 52 37, 00172 |
|------------------------------------|--|--|--|
| A. CLASS | A61K39/00 A61K39/385 | | |
| According | to International Patent Classification (IPC) or to both national | i classification and IPC | |
| B. FIELDS | S SEARCHED | | |
| IPC 6 | documentation searched (classification system followed by cla A61K | ssification symbols) | |
| Documenta | tion searched other than minimum documentation to the exten | nt that such documents are included | in the fields scarched |
| Electronic | data base consulted during the international search (name of d | ata base and, where practical, search | h terms used) |
| C. DOCUM | AENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category ' | Citation of document, with indication, where appropriate, o | (the relevant name | Substitution of the No. |
| | Garage of accounting with the account where appropriate, o | T OK TOOTAIN PASSAGES | Relevant to claum No. |
| X | WO 94 11513 A (MEDICAL RES CO; COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); DOUGLAS () 26 May 1994 see page 1, line 28 - page 12 | LOWRIE | 1 |
| X | TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 14, January 1996, CAMBRI pages 17-20, XPO02037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS:APPLICATIONS IN HEAL | DGE GB; | 1 |
| | DISEASE" see the whole document | | |
| | | -/ | *g.~- |
| | | | |
| X Fund | her documents are listed in the continuation of box C. | X Patent family memb | ers are listed in annex. |
| 'A' docum | tegories of cited documents : ent defining the general state of the art which is not lered to be of particular relevance | cited to understand the | d after the international filing date in conflict with the application but principle or theory underlying the |
| E earlier filing of L docume | document but published on or after the international date ent which may throw doubts on priority claim(s) or | involve su invendve uel | relevance; the claimed invention ovel or cannot be considered to 5 when the document is taken alone |
| other i austron | | "Y" document of particular r cannot be considered to document is combined to | relevance; the claimed invention involve an inventive step when the with one or more other such docu- n being obvious to a person skilled |
| "P" docume | ent published prior to the international filing date but nan the priority date claimed | in the art. "&" document member of the | • |
| Date of the | actual completion of the international search | | ternational search report |
| 13 | 2 August 1997 | 2 5. 08. 97 | |
| Name and n | nailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk | Authorized officer | |
| | Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo ni. Fax: (+31-70) 340-3016 | Rempp, G | |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

Intern al Application No PCT/DE 97/00172

| (Conunu | agon) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | PCT/DE 97/00172 |
|----------|--|-----------------------|
| | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| | | |
| <u> </u> | JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, | 1 |
| | vol. 14, November 1993, | 1 |
| | pages 352-356, XP002037576 | |
| | NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK | |
| | PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER" | |
| | see the whole document | |
| | The the whole document | |
| <- | SEMINARS IN CANCER BIOLOGY. | 1 |
| | vol. 6, December 1995, | 1 |
| | pages 349-355, XP002037577 | |
| | NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK | |
| | PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED | |
| | | i |
| | THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN | |
| | TUMORS" | |
| | see the whole document | |
| X | CHODENT ODINION IN IMMUNOLOGY | |
| ^ | CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, | 1 |
| - | vol. 6, 1994, LONDON GB, | |
| | pages 728-732, XP002037578 | |
| | PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK | |
| | PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER | |
| | IMMUNOTHERAPY" | |
| | see the whole document | |
| , , | INCCCTION AND IMPORTAN | |
| X,P | INFECTION AND IMMUNITY, | 1 1 |
| | vol. 64, no. 7, July 1996, WASHINGTON US, | · } |
| | pages 2400-2407, XP002037579 | 1 |
| | CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION | • |
| | OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF | |
| | PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS | |
| | IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS | 1 |
| | EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65" | |
| | see the whole document | 1 |
| | | |
| X,P | JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, | 1 |
| | vol. 60, August 1996, | 1 . |
| | pages 153-158, X P6 02037580 | 1 |
| | MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK | |
| | PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN | |
| | VACCINES" | ł |
| | see the whole document | |
| | ••• | 1 |
| (,P | EUR. J. IMMUNOL., | 1 |
| | vol. 26, November 1996, | 1 - |
| | pages 2559-2564, XP002037581 | |
| | TAMÁS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS | 1 |
| | EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL | |
| | CANCER VACCINES" | 1 |
| | see the whole document | |
| | | · |
| | | 1 |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | [|
| | | · |
| | | · |
| | | |

International application No. PCT/DE 97/00172

| Box I | Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet) |
|-----------|--|
| This inte | mational search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons: |
| 1. X | Claims Nos.: 13 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: |
| P tl | Remark: Although claim 13 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out, based on the alleged effects of the compound or composition. |
| 2. | Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically: |
| , , | (Noisea) las |
| 3. | Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a). |
| Box II | Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet) |
| This Int | ernational Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows: |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| 1. | As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims. |
| 2. | As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee. |
| 3. | As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: |
| | |
| | |
| | |
| 4. | No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: |
| | |
| Pamer | k on Protest The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. |
| - Canar | No protest accompanied the payment of additional search fees. |

Information on patent family memoers

Interna d Application No
PCT/DE 97/00172

| Patent document outed in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|------------------|--|--|
| WO 9411513 A | 26-05-94 | AU 5430794 A CA 2149309 A EP 0670899 A JP 8503132 T | 08-06-94 26-05-94 13-09-95 09-04-96 |

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern ales Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

| | | 1 101/02 21/ | |
|--|---|---|---|
| A. KLASSI IPK 6 | IFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES A61K39/00 A61K39/385 | | |
| Nach der In | sternationalen Patentidassifikation (IPK) oder nach der nationalen KI. | assifikation und der IPK | |
| | RCHIERTE GEBIETE | | |
| Recherchier IPK 6 | ter Mindestprufstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbo A61K | ole) | |
| Recherchier | rte aber rucht zum Mindestprufstoff gehorende Veroffentlichungen, so | weit diese unter die recherchierten Gebiete | fallen |
| Während de | er internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (N | ame der Datenbank und evil, verwendete | Suchbegnife) |
| C. ALS W | ESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, sowat erforderlich unter Angab | e der in Betracht kommenden Tale | Betr. Anspruch Nr. |
| Х | WO 94 11513 A (MEDICAL RES COUNCI; COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); LOW DOUGLAS () 26.Mai 1994 siehe Seite 1, Zeile 28 - Seite 1 | RIE | 1 |
| X | TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, Bd. 14, Januar 1996, CAMBRIDGE G Seiten 17-20, XP002037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS:APPLICATIONS IN HEALTH A DISEASE" siehe das ganze Dokument | : | 1 |
| | | ·/ | |
| | niere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu | X Siehe Anhang Patent/amilie | |
| ' Besonden 'A' Veroli aber : 'E' älteres Anma 'L' Veroli scheur ander soll o ausge 'O' Veroli ens E 'P' Veroli dem i | Tentischung, die den allgemeinen Stand der Technik desiniert, micht als besonders bedeutsam annischen ist is Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen eldedanum veröffentlicht worden ist sentlichtung, die geeignet ist, einen Prioritätsansprüch zwasschlaßt ernen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsidanim einer ein im Recherchenbericht genannen Veröffentlichung beigt werden ister die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie sicht) eine mündliche Offenbarung, Bemitzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht | T' Spatere Veroffentlichung, die nach der oder dem Priontatsdaum veröffentlich Anmeldung nicht kollidiert, sondern in Erfindung zugrundeltiegenden Prinzipt Theorie angegeben ist. "X' Veröffentlichung von besonderer Bede kann allem aufgrund dieser Veröffentlichung erfinderischer Tängkeit berühend betr "Y' Veröffentlichung von besonderer Bede kann nicht als auf erfinderischer Täng werden, werin die Veröffentlichung en dieser Kategone in diese Verbandung für einen Fachmans "&" Veröffentlichung, die Mitglied derseib Absendedanum des internationalen Re | ni worden ist und mit der ur zum Verständnis des der oder der ihr zugrundeliegenden ummg die beanspruchte Erfindum ichiung nicht als neu oder auf achtet werden ummg die beanspruchte Erfindum keit berühend betrachtet it einer oder mehreren anderen n Verbindung gebracht wird und n naheliegend ist en Patent/amilie ist |
|] | 12.August 1997 | 2 5. 08. 97 | |
| Name und | Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde Europaischer Patentamt, P.B. 5818 Patendaan 2 NL · 2230 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | Bevollmichugter Bediensteter Rempp, G | |

. 2

e postavi e

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Interr. sales Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

| C.(Forters | Ingl. ALS WESCHTLIGH ANGSCOUNT | PCT/DE 9 | 7/00172 |
|---------------------------------------|--|------------|--------------------|
| Kategorie* | INC. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
| · · · · · · · · · · · · · · · · · · · | Bezeichnung der Veröffendichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komm | enden Tale | Betr. Anspruch Nr. |
| X | JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, Bd. 14, November 1993, Seiten 352-356, XP002037576 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER" siehe das ganze Dokument | | 1 |
| x | SEMINARS IN CANCER BIOLOGY, Bd. 6, Dezember 1995, Seiten 349-355, XP002037577 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN TUMORS" siehe das ganze Dokument | | 1 |
| x | CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, Bd. 6, 1994, LONDON GB, Seiten 728-732, XP002037578 PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER IMMUNOTHERAPY" siehe das ganze Dokument | | 1 |
| K,P | INFECTION AND IMMUNITY, Bd. 64, Nr. 7, Juli 1996, WASHINGTON US, Seiten 2400-2407, XP002037579 CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65" siehe das ganze Dokument | | 1 |
| (,P | JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, Bd. 60, August 1996, Seiten 153-158, XP002037580 MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN VACCINES" siehe das ganze Dokument | | 1 |
| - P | EUR. J. IMMUNOL., Bd. 26, November 1996, Seiten 2559-2564, XP002037581 TAMÁS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL CANCER VACCINES" siehe das ganze Ookument | | 1 |
| | A/210 (Forusezung von Blact 2) (Juli 1992) | | |

.mationales Aktenzeichen

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

PCT/DE 97/00172

| Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1) |
|---|
| Gemaß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für besummte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt |
| 1. X Ansprüche Nr. 13 weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich |
| Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 13 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung. |
| 2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, namlich |
| 3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6,4 a) abgefaßt sind. |
| Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1) |
| Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält |
| |
| |
| Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Anspruche der internationalen Anmeldung. |
| 2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusatzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internauonale Recherchenbehorde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert. |
| 3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. |
| 4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwahnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt: |
| Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt. Die Zahlung zusatzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch. |

4.5

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Verossentlichungen, die zur seiben Patentiamilie gehoren

Interns des Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

| Im Recherchenbericht geführtes Patentdokument | Datum der Veroffendichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veroffendichung |
|--|------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| WO 9411513 A | 26-05-94 | AU 5430794 A CA 2149309 A | 08-06-94 26-05-94 |
| | | JP 8503132 T | 09-04-96 |